

ANALYSE DU RÔLE DES BASSES-COURS DANS LA DYNAMIQUE DE L'INFLUENZA AVIAIRE H5N8 EN FRANCE, 2016-2017

M. Souvestre¹, C. Guinat², E. Niqueux³, L. Robertet¹, G. Croville¹, M.C. Paul⁴, A. Schmitz³, A. Bronner⁵, N. Eterradossi³ et J.-L. Guérin⁴

¹ENVT, INRA, ENVT 23, chemin des Capelles, 31076 Toulouse, France

²Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, UMR ENVT-INRA 1225 IHAP, 23, 31076 Toulouse, France

³Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzanné - BP53, 22440 Ploufragan, France

⁴UMR ENVT-INRA 1225 IHAP, 23 Chemin des Capelles, 31076 Toulouse, France

⁵Direction Générale de l'Alimentation, 251 rue de Vaugirard, 75015 Paris, France

jl.guerin@envt.fr

RÉSUMÉ

De nombreux foyers d'influenza aviaire hautement pathogène (VIAHP) de sous-type H5N8 ont été décrits en Europe au cours de l'année 2016-2017. En France, 484 cas d'influenza H5N8 furent déclarés entre le 28 novembre 2016 et le 23 mars 2017, 20 d'entre eux concernant des élevages non-commerciaux. Afin d'évaluer le rôle des basses-cours dans la dynamique de transmission du virus, 70 d'entre-elles ont été enquêtées dans un rayon de 1 km autour des foyers H5N8. La biosécurité, le statut virologique et sérologique vis-à-vis de l'influenza A et du sous-type H5 ont été étudiés. La séroprévalence des basses-cours a été estimée à 25,7% pour l'influenza aviaire et 11,4% pour le sous-type H5. Des volailles séropositives vis-à-vis du virus H5N8 ont été détectées par la méthode IHA dans une seule basse-cour. Toutefois, les basses-cours possédant des palmipèdes ont été deux fois plus à risque vis-à-vis de l'influenza aviaire et 6 fois plus à risque vis-à-vis du sous-type H5. Aussi, il a été montré que les basses-cours ayant un lien avec les élevages commerciaux ont été plus à risque que celles n'ayant aucun lien épidémiologique avec ceux-ci. Ce risque a été évalué comme 6 fois plus élevé pour la séropositivité vis-à-vis de l'influenza aviaire et 20 fois plus élevé vis-à-vis du sous-type H5. Ces résultats indiquent que les basses-cours semblent avoir joué un rôle limité dans la dissémination du virus IAHP H5N8 entre les élevages commerciaux de volailles lors de l'épidémie 2016-2017. Toutefois ces deux facteurs semblent être des risques déterminants de contamination des basses-cours. Une évaluation fine des liens entre élevages commerciaux et non-commerciaux permettra d'émettre des recommandations pour contribuer à la biosécurité des filières avicoles.

ABSTRACT

Role of backyard flocks in the transmission dynamics of H5N8 Highly Pathogenic Avian Influenza, France, 2016-2017

In 2016-2017, major outbreaks of Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) occurred in Europe. From November 28, 2016 to March 23, 2017, 484 HPAI poultry outbreaks associated with the H5N8 virus were reported in France. While most outbreaks occurred in commercial flocks (n=464), 20 backyard flocks were also affected. In order to assess the role of backyard flocks in the transmission dynamics of the virus, 70 backyard flocks were investigated within a 1km radius from HPAI H5N8 commercial outbreaks. Biosecurity practices, virological and serological status were studied. The overall flock-level seroprevalence was estimated at 25.7% for avian influenza virus (AIV) and 11.4% for H5. Among H5-seropositive backyard flocks, only one showed HPAI-H5N8 antibodies. It has also been shown that backyard flocks including ducks were twice more likely to be AIV positive and six times more likely to be H5 positive than those having only chickens. Also, backyard flocks located on, or in close connection with, a commercial poultry farm were significantly six times more likely to be AIV positive and twenty times more likely to be H5 positive. High flock- and bird-level seroprevalences of AIV were evidenced in backyard flocks sampled after the 2016-2017 H5N8 epidemic. However, a very limited circulation of the H5N8 subtype was observed, highlighting the minor role of backyard flocks in the transmission dynamics of H5N8 in France. The two identified risk factors for infection in backyard flocks surrounding commercial farms affected by HPAI-H5N8 during the 2016-2017 epidemic seemed to be determinant in the dynamic of backyard flocks' infection and give the opportunity to issue practical recommendations to ensure biosecurity measures within the poultry industry.

INTRODUCTION

Au cours des deux dernières années, de nombreux foyers d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) ont été déclarés en Europe et en France impactant sévèrement l'industrie avicole (Briand et al., 2017; Guinat et al., *in press.*). Du 28 novembre 2016 au 23 Mars 2017, le virus de clade 2.3.4.4 assimilé au virus H5N8 a été identifié dans 484 foyers dans le Sud-Ouest de la France (Guinat et al., *in press.*). Parmi les 484 foyers, une vingtaine d'entre eux ont été des élevages non commerciaux considérés comme étant des basses-cours. Peu de données ont été collectées concernant les basses-cours en contexte de crise mais celles-ci sont en général considérées comme à risque vis-à-vis de l'influenza aviaire de par leur contact étroit avec la faune sauvage ainsi que par leur possible proximité géographique à ces élevages foyers. L'objectif de notre étude a été de quantifier la séroprévalence des basses-cours présentes dans un rayon de 1km autour des élevages commerciaux positifs en IAHP H5N8 en 2016-2017 vis-à-vis des virus de l'influenza aviaire (VIA) et du sous-type H5 ainsi que de réaliser une étude des facteurs de risque.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1 Plan d'échantillonnage

Les enquêtes ont été effectuées dans 39 communes du Gers où il a été identifié 169 basses-cours dans un rayon de 1km autour des élevages commerciaux foyers. Etant donné le risque associé à la détention de palmipèdes en regard de la circulation du virus, il a été enquêté en priorité les basses-cours détenant plusieurs espèces (poules, poulets, canards et oies) indépendamment de l'effectif ainsi que les basses-cours détenant des galliformes ayant un effectif de plus de 10 sujets. Au total, 70 basses-cours ont été enquêtées et prélevées entre le 31 mars 2017 et le 10 mai 2017 (Figure 1). Ont été prélevé en priorité les palmipèdes et ce jusqu'à 10 individus par basse-cour. Des écouvillons trachéaux et cloacaux ont été réalisés ainsi que des prises de sang à la veine alaire. Les échantillons ont été transportés sous-couvert du froid au laboratoire de virologie de l'ENVT et conservés à -80°C pour les écouvillons et -20°C pour les sérums.

1.2 Enquête épidémiologique

Un questionnaire de 28 questions concernant les pratiques, les mouvements d'animaux et les liens éventuels avec les élevages avicoles a été réalisé dans chaque basse-cour. Des statistiques descriptives ont été effectuées afin d'estimer la séroprévalence des VIA, du sous-type H5 et des pratiques des propriétaires. Une analyse multivariée a permis d'investiguer les facteurs de risques associés à la séroprévalence (VIA et H5).

Les associations ont d'abord été testées deux à deux à l'aide d'un test du Chi-deux ou de Fisher (Tableau 1). Les variables explicatives ayant une p-valeur inférieure à 0.2 ont été intégrées dans le modèle multivarié. Les variables explicatives ont été considérées significatives si la valeur de $p < 0.05$. Toutes les analyses ont été faites sur le logiciel R (version 3.4.1).

1.3 Examens sérologiques

Tous les oiseaux ont été testés à l'aide de la méthode ELISA en utilisant des kits ELISA FLUACA – Influenza A (ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-species, IdVet). Par la suite, pour tous les oiseaux positifs vis-à-vis de l'influenza A, il a été effectué des sérologies avec le kit H5 (ID Screen® Influenza H5 Antibody Competition, IdVet) pour recherche des anticorps spécifiques des virus H5.

Sous couvert de la DGAL, les sérums des volailles appartenant à une basse-cour détenant au moins un animal séropositif ou douteux en ELISA H5 ont été transmis au LNR pour des analyses sérologiques complémentaires IHA H5 selon la norme NF U47-036-2 et en utilisant différents couples d'antigènes spécifiques de virus H5 du clade 2.3.4.4 : H5N8 A/decoyduck/France/161105a/2016 et H5N5 A/muteswan/ Croatia/102/2016 pour le H5N8, et H5N3 A/muscovy duck/France/070090b/2007 et H5N2 A/chicken/France/03426a/2003 pour les autres lignées européennes (OIE, 2015).

1.4 Examens virologiques

Les écouvillons trachéaux et cloacaux ont été placés dans des tubes Eppendorf remplis de 500µL de solution PBS. Ils ont été placés une nuit en chambre froide puis centrifugés avant extraction. L'extraction d'ARN à partir du liquide obtenu a été réalisée avec le kit NucleoSpin® RNA Virus (Macherey Nagel) en suivant les indications du fabricant. Les PCR quantitatives en temps réel (qRT-PCR) à partir des ARN issus des écouvillons ont été réalisées en duplicats dans des plaques 96 puits à l'aide du kit iTaq Universal SYBR® Green One Step kit (Bio-rad) dans un volume final de 10 µL en suivant les instructions du fabricant.

Dans un premier temps, la recherche des VIA a été réalisée sur toutes les basses-cours en mélange (pools de 5 animaux) par amplification du gène M (amorces M52C et M253R) (Fouchier et al., 2000)

Aussi, tous les animaux des basses-cours ayant eu au moins un animal séropositif vis-à-vis de l'IA H5 ont été testés individuellement en qRT-PCR pour le sous-type H5 à partir des écouvillons trachéaux et cloacaux. Les amorces H5_kha1 et H5_kha2 ont été utilisées (Pérez et al., 2012).

2. RESULTATS

2.1 Epidémiologie descriptive

Les basses-cours étudiées ont un effectif moyen de 17 animaux par basse-cour, en moyenne une basse-cour présente 14 galliformes, 2 canards et 1 oie. Les basses-cours présentes dans cette étude existent depuis longtemps (59% des basses-cours existent depuis plus de 30 ans). 17% des basses-cours ont un lien étroit avec la filière commerciale (éleveur sur site ou dans le foyer, personnel d'abattoir ou autre prestataire de la filière) et 7% des propriétaires pratiquent l'entraide au sein d'élevages avicoles commerciaux.

On observe que 97% des propriétaires n'ont pas de tenues spécifiques, 83% ne changent pas de chaussures, 33% ne se lavent pas les mains avant ou après la visite de la basse-cour. Il s'agit d'une population peut médicalisée (1 propriétaire a rencontré le vétérinaire de façon exceptionnelle) où peu de signes cliniques et de mortalité ont été décrits (Tableau 1).

2.2 Résultats de PCR quantitative temps réel

Toutes les basses-cours ont été négatives lors de la recherche des VIA par PCR. Tous les écouvillons trachéaux et cloacaux issus des basses-cours séropositives vis-à-vis du sous-type H5 ont été négatives vis-à-vis de l'influenza H5.

2.3 Résultats sérologiques ELISA et IHA

La séroprévalence à l'échelle des basses-cours a été estimée à 25,7% (95% IC : 16.9-37.0) vis-à-vis des VIA et 11,4% vis-à-vis du sous-type H5 (Tableau 2). La séroprévalence à l'échelle individuelle a été estimée à 5,9% (95% IC : 4.3-8.1) pour les VIA et 3,3% (95% IC : 2.1-5.0) pour le virus H5. On note une prévalence plus élevée chez les canards que chez les galliformes. Chez les canards la prévalence s'élève à 13.1% (95% IC : 8.24-20.24) pour les VIA et à 9.0% (95% IC : 5.11-15.43) pour le sous-type H5 alors qu'elle est chez les galliformes de 4.1% (95% IC : 2.68-6.27) pour les VIA et de 1.9% (95% IC : 0.98-3.48) pour le sous-type H5. Le test d'inhibition d'hémagglutination (IHA) nous montre que, parmi les 8 basses-cours séropositives vis-à-vis du sous-type H5, seulement une d'entre-elle possède des titres en anticorps élevé vis-à-vis d'un virus de la lignée de clade 2.3.4.4 pouvant s'apparenter au virus H5N8 circulant à cette période. La propriétaire travaillait dans une conserverie de volailles. Trois autres basses-cours possèdent des titres élevés évoquant la circulation de virus de lignées eurasiennes proches des souches H5N2, H5N3 ayant circulées en 2015 en France.

2.4 Facteurs de risques associés au statut sérologique

Il a été montré que les basses-cours détenant des palmipèdes étaient plus à risque d'être séropositives

vis-à-vis des VIA (OR = 2.3, 95% IC : 1.1-5.1) et du sous-type H5 (OR = 5.7, 95% IC : 1.6-30.6) que les basses-cours détenant seulement des galliformes (Tableau 3). Ces résultats renforcent plusieurs études soulignant le rôle des canards dans l'excrétion et la transmission du virus (Briand et al., 2017)

Le second facteur de risque associé à une augmentation de la séroprévalence des basses-cours est le « lien humain » que présentaient celles-ci avec les élevages commerciaux. En effet, le lien a été objectivé par la description de l'implication du propriétaire ou de l'un des membres du foyer dans la filière commerciale avicole (basses-cours d'éleveurs ou de parents d'éleveurs par exemple). Ainsi, les basses-cours localisées sur les sites de production et détenues par des éleveurs ou celles en connexion étroite à un élevage commercial ont montré un sur-risque significatif pour les VIA (OR = 6.0, 95% IC : 1.5-24.5) et pour le sous-type H5 (OR = 20.5, 95% IC : 3.2-215.8) (Tableau 3).

3. DISCUSSION

Dans le cadre de la circulation du virus H5N8 de l'année 2016-2017, il semblerait que les basses-cours n'aient joué qu'un rôle mineur dans la dynamique de dissémination du virus.

Dans notre étude, une attention particulière a été portée sur les basses-cours détenant des palmipèdes de par leur risque additionnel décrit dans la circulation des VIA (Briand et al., 2017). Ainsi, notre étude a surreprésenté les basses-cours de ce type, surestimant ainsi les séroprévalences décrites.

A ce jour, la proximité géographique des élevages commerciaux n'a pas été considérée comme un facteur de risque, malgré la transmission par voie aérosol (Power, C., 2005; Thomas et al., 2005). Les résultats (une seule unité séropositive pour les virus H5 de clade 2.3.4.4, dont le détenteur travaillait dans une conserverie de volailles sur un total de 70 prélevées, dans un contexte de très forte proximité avec des foyers IAHP H5N8 confirmés et récents) sont en défaveur d'une diffusion majeure du virus H5N8 par voie aérosol au-delà de quelques centaines de mètres de distance. En effet, le sur-risque concerne donc les basses-cours en lien avec la filière avicole commerciale et ce lien n'est pas toujours évident. Une étude souligne l'importance du lien humain dans la transmission d'agents pathogènes (Alexander, 2007) par contacts directs ou indirects, entre personnes ou par le partage d'équipement (CFIA Canada, 2005).

Toutefois, les basses-cours pourraient jouer aussi un rôle de « réservoir » vis-à-vis de certains agents pathogènes persistants (Pohjola et al., 2017). La suite de l'étude consiste à investiguer la présence d'autres agents pathogènes d'intérêt majeur pour la santé et l'économie des filières avicoles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- OIE World Organisation for Animal Health, 2015. In: Avian influenza (infection with avian influenza viruses): Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, OIE, Chapter 2.3.4.
- Alexander, D.J., 2007. Vaccine, (25), 5637–5644.
- Briand F-X, Schmitz A, 2017. Euro Surveill., (9), 22
- Guinat C, Nicolas G, *In press* 2018. Eurosurveillance.
- CFIA, 2005, Canada's Experiences with Avian Influenza (AI).
- Fouchier, R.A.M., Bestebroer, T.M., 2000. J Clin Microbiol (38), 4096–4101.
- Pérez, L.J., Díaz de Arce, H, 2012. Molecular and Cellular Probes (26), 137–145.
- Pohjola, L., Tammiranta, N, 2017. Avian Pathology (46), 166–172.
- Power, C., 2005. Animal Disease Surveillance Unit Canadian Food Inspection Agency.
- Thomas, M.E., Bouma, A., 2005. Preventive Veterinary Medicine (69), 1–11.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué dans le cadre de la Chaire de Biosécurité aviaire (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation – DGAL et CIFO). Nous remercions la DDPP32, les maires des communes du Gers, les éleveurs des foyers, les propriétaires des basses-cours, et les étudiants de l'ENVT pour leur collaboration et travail réalisé.

Figure 1 : Département du Gers et répartition géographique des foyers et des basses-cours investiguées

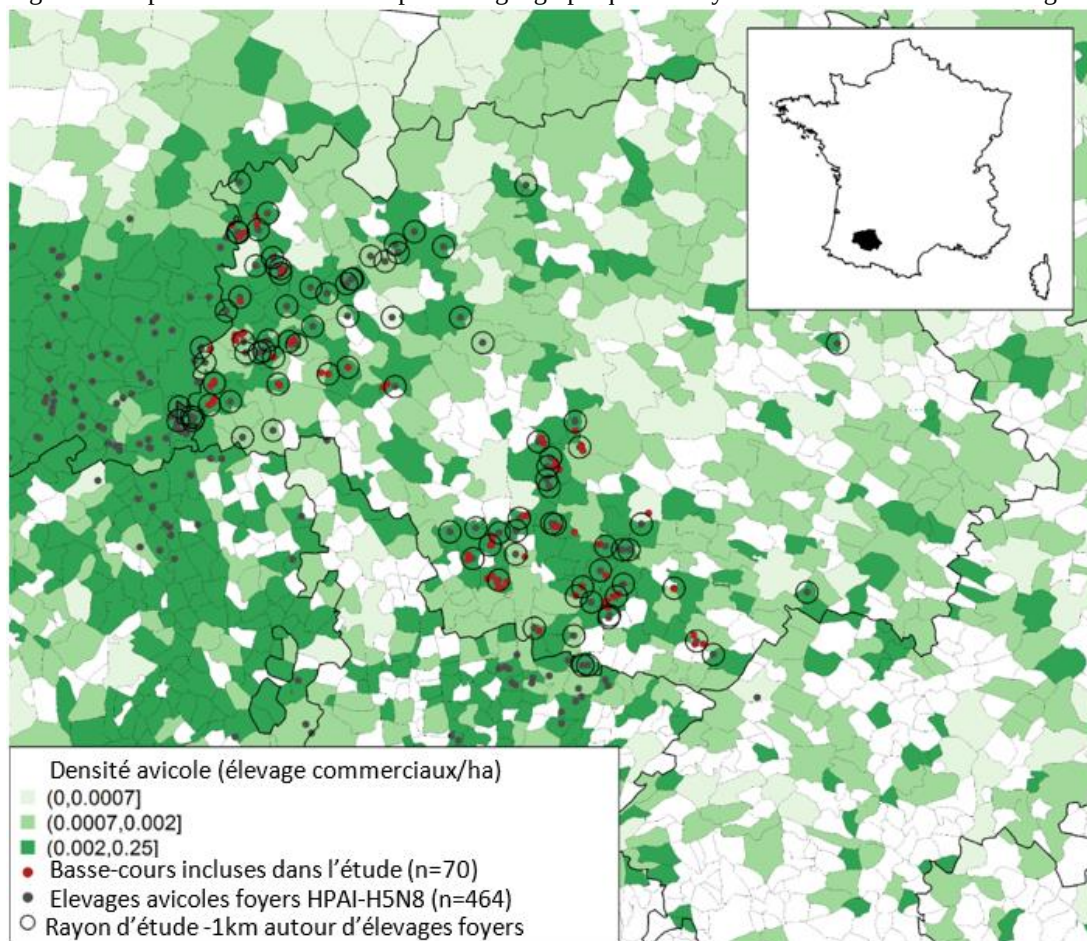


Tableau 1 : Variables descriptives étudiées dans le cadre de l'enquête des pratiques de biosécurité

Variable	Description	Basse-cour, % (proportion)	P-value chi-squared or Fischer test AIA	P-value chi- squared or Fischer test AIH5
Espèce	Basses-cours avec palmipèdes*	31 (22/70)	0.019*	0.025*
Parcours extérieur	Access à un parcours extérieur délimité	76 (53/70)	1.00	1.00
Basse-cour couverte	Couverture du poulailler et parcours	19 (13/70)	0.19	0.19
Protection de l'alimentation	Distribution eau/aliment dans un endroit couvert	57 (40/70)	0.28	0.46
Changement de conduite	Modification des pratiques de biosécurité suite aux premiers cas d'IA dans le Sud-Ouest	37 (26/70)	0.38	0.70
Tenue	Absence de tenue spécifique pour l'entretien de la basse-cour	97 (68/70)	1.00	1.00
Chaussures	Absence de chaussures spécifiques à l'entretien de la basse-cour	83 (58/70)	0.43	0.71
Lavage des mains	Absence de lavage des mains avant ou après la visite de la basse-cour	33 (23/70)	0.98	0.85
Introduction oiseau	Introduction d'un oiseau sur la dernière année	73 (51/70)	0.92	0.70
Vente/don	Vente ou don d'oeufs à famille ou voisin	74 (52/70)	0.51	0.51
Ancienneté basse-cour	Propriétaires de basse-cour depuis plus de 30 ans	59 (41/70)	0.15	0.33
Visite foire avicole	Visite d'une exposition/foire avicole sur les 3 derniers mois	4 (3/70)	1.00	0.31
Lien avec la filière avicole	Activité professionnelle du propriétaire ou d'un des membres du foyer en lien avec l'industrie aviaire **	17 (12/70)	0.013**	0.008**
Entraide	Entraide auprès d'un éleveur de volailles	7 (5/70)	1.00	1.00
Chasse	Propriétaire ou membre de la famille chassant	31 (22/70)	0.93	0.42
Proximité autre basse-cour	D'après le propriétaire, présence d'une basse-cour à proximité	74 (52/70)	1.00	1.00
Mortalité	Mortalité anormale au cours des 3 derniers mois	4 (3/70)	1.00	1.00
Signes cliniques palmipèdes	Signes cliniques sur les canards durant les 3 derniers mois	0 (0/70)	--	--
Signes cliniques gallus	Signes cliniques sur les poulets Durant les 3 derniers mois	6 (4/70)	1.00	1.00
Consultation vétérinaire	Visite vétérinaire au cours des 3 derniers mois	1 (1/70)	0.26	0.11

Tableau 2 : Séroprévalences de l'IA et du sous-type H5 à l'échelle des basses-cours et à l'échelle individuelle

	IA		H5	
	Proportion	Prevalence [95% IC]	Proportion	Prevalence [95% IC]
Basses-cours totales	18/70	25.7 [16.93-37.03]	8/70	11.4 [5.91-20.96]
Basses-cours gallus	9/48	18.8 [10.19-31.94]	2/48	4.2 [1.15-13.97]
Basses-cours avec palmipèdes	9/22	40.9 [23.26-61.26]	6/22	27.3 [13.15-48.15]
Tout oiseaux	36/608	5.9 [4.31-8.09]	20/608	3.3 [2.14-5.03]
Poules/poulets	20/486	4.1 [2.68-6.27]	9/486	1.9 [0.98-3.48]
Canards	16/122	13.1[8.24-20.24]	11/122	9.0 [5.11-15.43]

Tableau 3 : Variables explicatives significatives vis-à-vis du risque de séropositivité IA et H5

Variable	Variable explicative	Description	Odds Ratio	95% CI	P-value
AIA	Espèce	Basses-cours avec palmipèdes	2.3	1.1-5.1	0.036
	Lien avec industrie avicole	Activité professionnelle du propriétaire ou d'un des membres du foyer en lien avec l'industrie aviaire	5.8	1.5-24.5	0.011